

С.А. Новаковская¹, Л.И. Арчакова¹ и П.М. Маслюков²

УЛЬТРАСТРУКТУРА НЕЙРОНОВ КАУДАЛЬНОГО БРЫЖЕЕЧНОГО УЗЛА КОТЯТ В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

¹ Центр электронной и световой микроскопии (зав. — канд. мед. наук С.А. Новаковская), Институт физиологии НАН Беларуси, г. Минск; ² кафедра нормальной физиологии с курсом биофизики (зав. — проф. В.Н. Воловенко), Ярославская государственная медицинская академия, e-mail: mpm@uma.ac.ru, biblio@fizio.bas-net.by, novakovskaya@tut.by

При помощи электронной микроскопии изучены особенности развития нервных элементов симпатического каудального брыжеечного ганглия (КБГ) кошки с момента рождения до конца 2-го месяца жизни. Выявлено не одновременное созревание нейронов и их окончаний; наряду с вполне развитыми нейронами, глиоцитами и синапсами, у новорожденных котят отмечены множественные незрелые формы этих структур. У 14-дневных животных доля незрелых клеток снижается, однако в этом возрасте чаще встречается деструкция нейронов. В КБГ животных всех возрастных исследованных групп наиболее часто выявлялись аксо-дендритные и реже — аксо-соматические синапсы. Окончательно ультраструктура КБГ у котят становится сопоставимой с таковой у взрослых животных в возрасте 60 сут.

Ключевые слова: симпатический ганглий, каудальный брыжеечный ганглий, электронная микроскопия, онтогенез

Применение методов электронной микроскопии позволило подробно изучить ультраструктуру нейронов и характер синаптических связей в симпатических ганглиях [1, 2, 7, 8]. В процессе онтогенеза происходят преобразования нейронной организации последних. У новорожденных животных каждый из нейронов ганглия иннервируется одновременно несколькими преганглионарными аксонами, образующими на них примитивные синапсы; однако с течением времени число аксонов, контактирующих с одним нейроном, уменьшается [10]. Одновременно с этим постепенно, начиная с момента рождения, увеличивается число синаптических контактов, которые образуют преганглионарный аксон на отростках и теле нейрона ганглия. Все эти процессы возрастной перестройки сопровождаются дегенеративными явлениями, наблюдаемыми в отростках и нейронах автономных ганглиев, исчезновением одних и появлением новых синапсов [6, 10, 13, 14].

Установлен «критический период» в развитии ганглиев, когда аксоны части нейронов достигают клеток-мишеней. Нейроны с такими аксонами выживают и развиваются, а другие, чьи аксоны не достигли органа-мишени, погибают [5]. В литературе преобладают сведения о возрастных преобразованиях строения симпатических нейронов паравертебральных ганглиев в процессе онтогенеза. Данные относительно возрастных преобразований ультраструктуры нейронов превертебральных ганглиев у животных разного возраста лишь отрывочны. Цель настоящей работы — электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры симпатического каудаль-

ного брыжеечного ганглия (КБГ) котят в раннем периоде постнатального онтогенеза.

Материал и методы. Работа выполнена на котятках разных возрастных групп. 1-ю группу составляли котятки в возрасте от 12 ч до 5 сут после рождения (n=8), 2-ю группу — котятки в возрасте 14 сут (n=8), 3-ю группу — котятки в возрасте 60 сут (n=8). Исследование проведено в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу № 755 от 12.08.1977 г. МЗ СССР). КБГ для исследований иссекали у животных под уретановым наркозом (2 г/кг внутривенно), затем измельчали в охлажденном буферном растворе (фосфатный буфер 0,1 М) и погружали в фиксирующий раствор, состоящий из смеси 4% раствора глутарового альдегида и 1% раствора параформальдегида при температуре 4 °С на 1 ч. После промывания в 0,1 М фосфатном буфере материал дополнительно фиксировали в 1% растворе OsO₄ в течение 2 ч при температуре 4 °С, после чего материал еще раз промывали и по общепринятой методике обезвоживали в спиртах возрастающей крепости, затем заключали в аралдит [3].

Полимеризацию материала проводили при температуре 56 °С в течение 2 сут. Материал резали на ультратоме LKB (Швеция) и просматривали в электронном микроскопе JEM 100 CX (JEOL, Япония) при рабочем увеличении 7500–10000 и ускоряющем напряжении 80 кВ. Толщина срезов — 40–50 нм.

Результаты исследования. Созревание нейронов и глиоцитов, формирование нейрита и синапсов в КБГ к моменту рождения котят не закончено. Ганглии содержат нейроны с разным уровнем дифференцировки. У новорожденных животных преобладают малодифференцированные нейроны, с малыми размерами, эксцентрично расположенным ядром, узким ободком цито-

плазмы, небольшим числом органелл (рис. 1, б). Определяются так же и зрелые дифференцированные нейроны. Ядра таких нейронов имеют равномерно рассеянный хроматин, занимают большой объем тела клетки. В цитоплазме определяется характерный набор органелл — комплекс Гольджи, хорошо развитые цистерны эндоплазматической сети, розетки рибосом, митохондрии (см. рис. 1, а). В области комплекса Гольджи отмечаются скопления секреторных пузырьков, часть которых трансформировались в гранулярные пузырьки — характерные маркеры симпатических нейронов, депонирующие катехоламины.

Некоторые нейроны ганглия подвергаются процессам обратного развития, что выражается в процессах дегенерации их цитоплазмы и ядра, вакуолизации, разрушении и лизисе органелл и окружающей их гиалоплазмы (см. рис. 1, в). Разрушение клеток происходит путем апоптоза. При этом наблюдаются нейроны с формированием в цитоплазме множественных плотных миелиноподобных тел и вакуолей, сморщиванием и деформацией ядра, фрагментацией ядрышка. Митохондрии имеют электронно-прозрачный матрикс, большинство крист разрушено.

Нейропил КБГ у новорожденных котят характеризуется асинхронностью дифференцировки, выражающейся в различной степени зрелости как нервных, так и глиальных отростков: одни из них вполне сформированы и обладают ультраструктурой, характерной для хорошо развитых аксонов и дендритов, другие — имеют признаки незрелых структур (см. рис. 1, г). На данном этапе развития выявляются участки КБГ с вполне развитым нейропилем, содержащим окончания аксонов и дендритов с присущей им ультраструктурной организацией. В таком нейропиле наблюдаются аксо-дендритные и аксо-соматические синапсы с характерным набором синаптических пузырьков — холинергических и адренергических. Области синаптических контактов хорошо выражены и проявляют повышенную электронную плотность контактирующих мембран, их асимметрию, свойственную зрелым дифференцированным синапсам.

Недостаточно зрелые нервные отростки, в отличие от зрелых, — тонкие, в нейропиле неплотно прилежат друг к другу, электронно-прозрачны, содержат единичные органеллы. Незрелые глиальные отростки частично прилежат к нервным

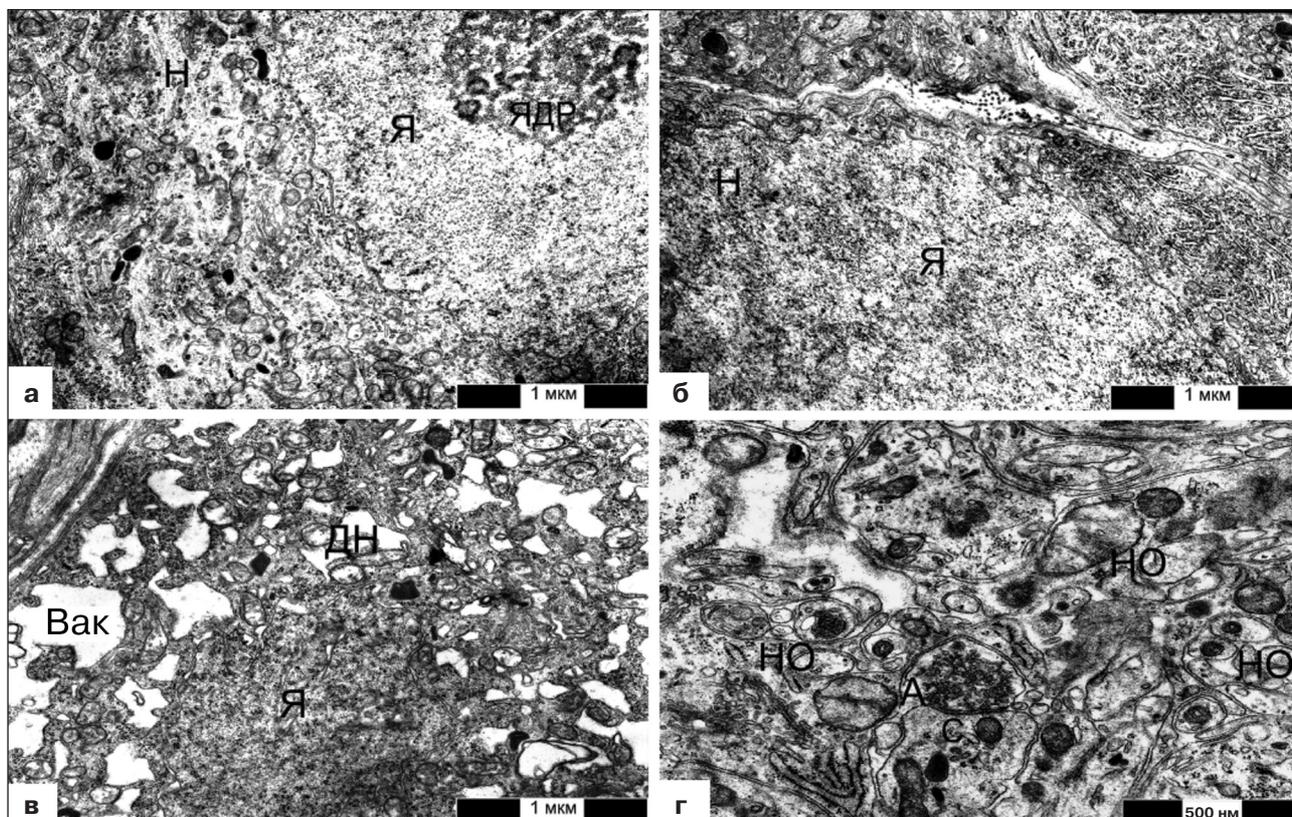


Рис. 1. Ультраструктурная организация нейронов и нейропиля каудального брыжеечного ганглия новорожденных котят.

а, б — ультраструктура дифференцированного (а) и малодифференцированного (б) нейронов; в — ультраструктура дегенерирующего нейрона с вакуолизированной цитоплазмой и лизисом органелл; г — асинхронная дифференцировка нейропиля. Н — нейрон; Я — ядро; Ядр — ядрышко; ДН — дегенерирующий нейрон; Вак — вакуоль; НО — нервный отросток; А — аксон; С — синапс.

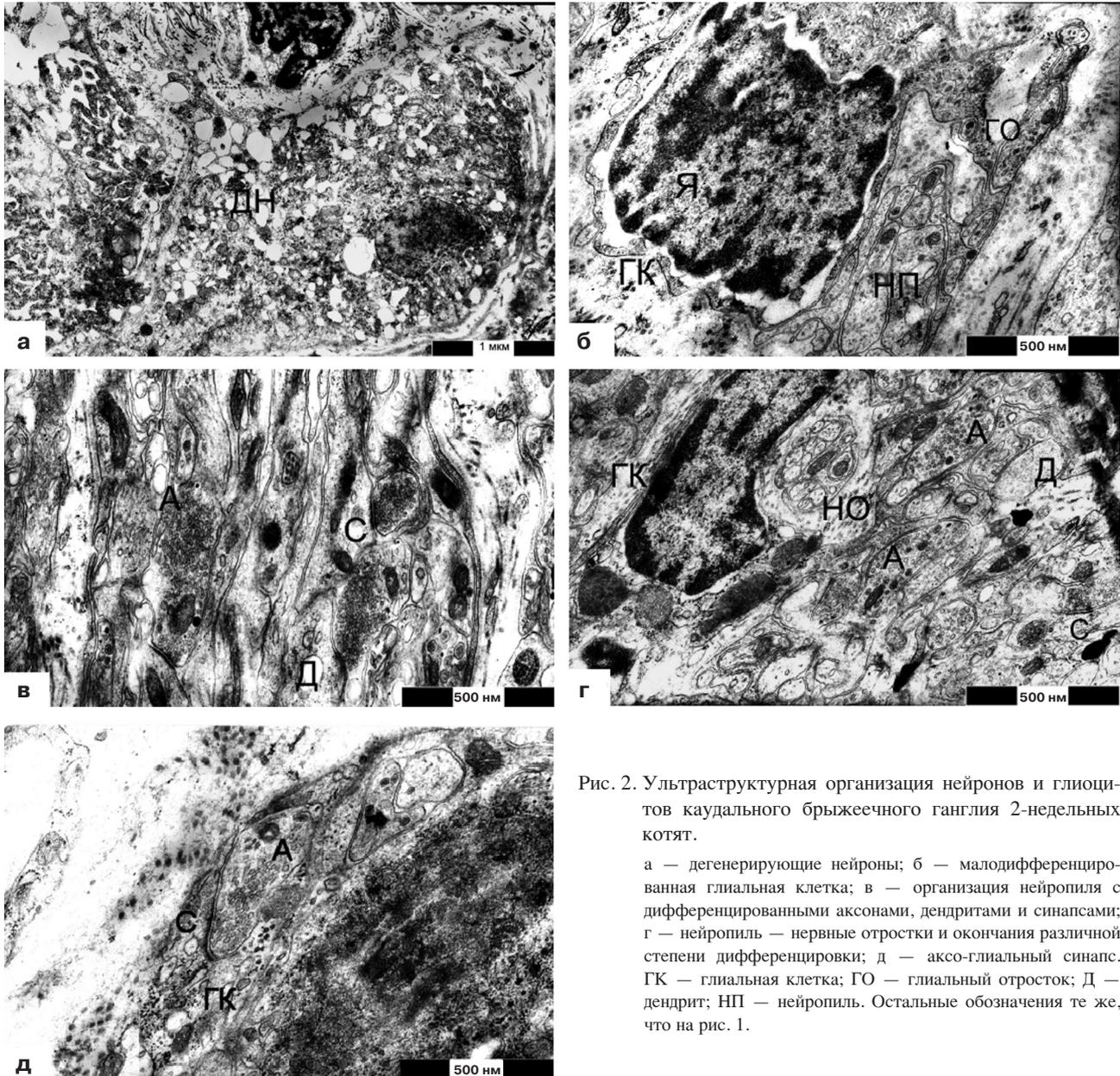


Рис. 2. Ультраструктурная организация нейронов и глиоцитов каудального брыжеечного ганглия 2-недельных котят.

а — дегенерирующие нейроны; б — малодифференцированная глиальная клетка; в — организация нейрофила с дифференцированными аксонами, дендритами и синапсами; г — нейрофил — нервные отростки и окончания различной степени дифференцировки; д — аксо-глиальный синапс. ГК — глиальная клетка; ГО — глиальный отросток; Д — дендрит; НП — нейропил. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

отросткам и не покрывают их полностью, бедны органеллами. Щели между ними широко сообщаются с межклеточным пространством.

В КБГ в этот период развития отмечаются также области с начальными стадиями синаптогенеза, где тонкие нервные отростки с небольшим количеством органелл начинают формировать синаптический контакт, который не покрыт глиальной оболочкой и широко сообщается с окружающим интерстициальным пространством, заполненным рыхлой соединительной тканью. Помимо явлений синаптогенеза, отмечается и инволюция части нервных окончаний с появлением миелиноподобных включений, митохондрий с электронно-плотным матриксом, что свидетельствует об интенсивных процессах перестройки в ганглиях у новорожденных котят.

Созревание нервных и глиальных клеток и формирование синапсов в КБГ у котят в возрасте 14 сут продолжается. Отмечаются как зрелые, так и недостаточно дифференцированные нейроны. В этом возрасте у котят морфологически зрелых нейронов становится больше. В связи с усилением процессов перестройки у них чаще встречается деструкция некоторых нейронов, в том числе и по типу апоптоза (рис. 2, а).

Характерным для ультраструктуры КБГ у котят этого периода жизни является недостаточное развитие многих шванновских клеток. Пятнистое, крупных размеров с неровными контурами ядро занимает почти весь объем тела клетки, его окаймляет лишь узкий ободок цитоплазмы. Отростки их цитоплазмы тонкие, они лишь

подходят к нервным отросткам, полностью их не охватывая (см. рис. 2, б).

В этом возрасте в КБГ у котят имеются зрелые синаптические контакты, в основном аксо-дендритные, реже аксо-соматические и аксо-аксональные, характеризующиеся полным набором компонентов, свойственных зрелым синапсам — синаптические пузырьки, асимметричные синаптические мембраны и т.д. (см. рис. 2, в). Наряду с ними, в том же ганглии имеются незрелые синапсы, о чем можно судить по полиморфизму синаптических пузырьков, симметричности мембран и другим признакам (см. рис. 2, г). Формирование синаптических пузырьков происходит асинхронно. Некоторые аксонные терминалы содержат пузырьки одинакового размера, другие терминалы заполнены полиморфными пузырьками разного диаметра, что указывает на незавершенность их развития. В КБГ отмечаются также начальные стадии синаптогенеза, при этом формирующиеся синапсы содержат небольшое количество синаптических пузырьков и неотчетливо выраженные уплотнения пре- и постсинаптических мембран. Отличительной чертой организации синаптического аппарата КБГ в данный период развития являются аксо-глиальные синапсы, редко встречаемые в ганглиях взрослых животных (см. рис. 2, д).

К 60-м суткам у котят в подавляющем большинстве в КБГ отмечаются зрелые нейроны, ядра которых содержат равномерно рассеянный хроматин, а в цитоплазме имеется характерный комплекс органелл: хорошо выраженная агранулярная и гранулярная эндоплазматическая сеть, большое количество митохондрий. Иногда в некоторых нейронах, полностью не завершивших свое созревание, с хорошо развитыми и сформированными органеллами ядро смещено на периферию клеточного тела. В то же время, в незначительном числе определяются нейроны небольших размеров с малым количеством органелл.

Среди синаптических контактов преобладают зрелые аксо-дендритные с отчетливо выраженной структурой. В их части области синаптических контактов хорошо выражены, отмечается уплотнение пре- и постсинаптических мембран, их асимметрия. Менее часто встречаются аксо-соматические и аксо-аксональные синапсы.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, созревание структур КБГ у кошки в раннем постнатальном периоде характеризуется асинхронностью дифференцировки нейронов и глиоцитов. У новорожденных котят имеются как зрелые нейроны, так и нейроны на разных стадиях созревания. Недостаточно дифференциро-

ванные нейроны характеризуются эксцентрично расположенным ядром, небольшой электронной плотностью цитоплазмы и ограниченным набором органелл. Отмечаются незавершенность развития глиального компонента, а также дистрофические процессы в нервных окончаниях — аксонах и дендритах.

В более позднем постнатальном периоде — от 14 сут и далее продолжается созревание нейронов и глиоцитов и формирование синапсов, многие из которых приобретают вид зрелых структур. Вместе с тем, и в данный период происходит дегенерация части нейронов и их терминалей путем апоптоза, что является показателем активных перестроек в нервной системе.

В КБГ животных всех возрастных групп наиболее часто выявляются аксо-дендритные, реже — аксо-соматические, наиболее редко — аксо-аксональные синапсы. Данные литературы свидетельствуют о том, что в ряду животных, включающем мышей, крыс, морских свинок, кроликов, кошек, происходит снижение доли аксо-соматических синапсов и увеличение относительного содержания аксо-дендритных [7–9]. У животных первых 2 нед жизни в КБГ определяются аксоглиальные синапсы, редко встречаемые в ганглиях у взрослых животных. Подобные аксоглиальные синапсы отмечены у плодов крысы, у взрослых особей они отсутствуют [12].

К концу 2-го месяца жизни КБГ у котят приобретают характеристики зрелых структур. Это соответствует данным, полученным ранее при исследовании иннервации внутренних органов нейронами симпатических узлов [4, 11]. К этому возрасту происходит окончательное формирование контактов нейронов симпатических узлов с органами-мишенями.

Работа поддержана РФФИ, грант 08-04-00470; грантом Президента РФ для поддержки молодых ученых, ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арчакова Л.И. и Булыгин И.А. Ультраструктура чувствительных окончаний в симпатических ганглиях. *Арх. анат.*, 1980, т. 78, вып. 3, с. 42–52.
2. Бабминдра В.П. и Брагина Т.А. Структурные основы межнейронной интеграции. Л., Наука, 1982.
3. Боголепов Н.Н. Методы электронно-микроскопического исследования мозга. М., Медицина, 1976.
4. Маслюков П.М. Связи нейронов звездчатого ганглия кошки с органами-мишенями в постнатальном онтогенезе. *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*, 2000, т. 86, № 6, с. 703–710.
5. Слукa Б.А. Информационный анализ нейроцитов некоторых периферических ганглиев и критические периоды их дифференцировки. *Арх. анат.*, 1983, т. 84, вып. 2, с. 16–22.

6. Aguayo A.J., Peyronnard J.M., Ferry L.C. et al. Neonatal neuronal loss in rat superior cervical ganglia: retrograde effects on developing preganglionic axons and Schwann cells. *J. Neurocytol.*, 1976, v. 5, № 2, p. 137–155.
7. Elfvin L.-G. The ultrastructure of the superior cervical sympathetic ganglion of the cat. I. The structure of the ganglion cell processes as studied by serial sections. *J. Ultrastruct. Res.*, 1963, v. 8, p. 403–440.
8. Elfvin, L.-G. The ultrastructure of the superior cervical sympathetic ganglion of the cat. II. The structure of the preganglionic end fibres and the synapses as studied by serial sections. *J. Ultrastruct. Res.*, 1963, v. 8, p. 441–476.
9. Gibbins I.L., Rodgers H.F., Matthew S.E., Murphy S.M. Synaptic organisation of lumbar sympathetic ganglia of guinea pigs: serial section ultrastructural analysis of dye-filled sympathetic final motor neurons. *J. Comp. Neurol.*, 1998, v. 402, p. 285–302.
10. Lichtman J.W. The reorganization of synaptic connection during postnatal development. *J. Physiol.*, 1977, v. 273, № 1, p. 155–177.
11. Masliukov P.M., Pankov V.A., Strelkov A.A. et al. Morphological features of neurons innervating different viscera in the cat stellate ganglion in postnatal ontogenesis. *Auton. Neurosci.*, 2000, v. 84, p. 169–175.
12. May M.K. and Biscoe F.J. An investigation of the foetal rat spinal cord. II. An ultrastructural study on the development of synapses with the aid of observations on some electrophysiological properties. *Cell Tissue Res.*, 1975, v. 158, № 2, p. 251–268.
13. Purves D. and Lichtman J.W. Formation and maintenance of synaptic connections in autonomic ganglia. *Physiol. Rev.*, 1978, v. 58, № 4, p. 821–862.
14. Purves D. and Lichtman J.W. Elimination of synapses in the developing nervous system. *Science*, 1980, v. 210, № 4466, p. 153–157.

Поступила в редакцию 10.03.10
Получена после доработки 30.07.10

ULTRASTRUCTURE OF THE CAUDAL MESENTERIC GANGLION NEURONS DURING EARLY DEVELOPMENT IN KITTENS

S.A. Novakovskaya, L.I. Archakova and P.M. Masliukov

Electron microscopy was used to study the peculiarities of the development of nervous elements in the sympathetic caudal mesenteric ganglion (CMG) in the cat from the moment of birth until the end of the second month of life. The discordance in the rate of maturation of both neurons and their endings was observed. In newborn kittens, mature neurons, glial cells and synapses were observed together with many immature ones. In 14-day-old animals, the proportion of immature neurons decreased, while destruction of neurons was observed more frequently in this age. In CMG of the animals of all the age groups, axodendritic synapses were found most frequently and axosomatic synapses were observed more rarely. Finally, the ultrastructure of CMG in kittens become comparable to that of adult animals at the age of 60 days.

Key words: *sympathetic ganglion, inferior mesenteric ganglion, electron microscopy, ontogenesis*

Center of Light and Electron Microscopy, National Academy of Sciences Institute of Physiology, Minsk, Belarus; Department of Normal Physiology with the Course of Biophysics, Yaroslavl State Medical Academy